

МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫЙ КЛЕТОЧНЫЙ БИОКАТАЛИЗ

Кладько Д.В. (Университет ИТМО)

Научный руководитель – д.х.н. Виноградов В. В., доцент

Университет ИТМО

Аннотация

В этой работе мы впервые демонстрируем увеличение на $150 \pm 8\%$ биокатализа *Saccharomyces cerevisiae* из-за приложения низкочастотного магнитного поля (100 Гц). Этот эффект был достигнут с помощью специально разработанных магнитных ежи-подобных частиц, состоящих из наночастиц с микронным размером ядра, покрытых наночастицами с высокой плотностью, которые обеспечивают биобезопасное увеличение проницаемости клеточных мембран в выбранном диапазоне частот магнитного поля и концентраций. Возможность контролировать метаболизм клеток, не влияя на их жизнеспособность, является многообещающим способом промышленного биосинтеза для получения полезного продукта с использованием генно-инженерных клеток и последующего улучшения биотехнологических процессов.

Введение. Фабрики микробных клеток являются альтернативной стратегией производства ценных соединений из возобновляемого сырья, включая биотопливо, химические вещества и фармацевтические препараты. Однако существующие методы модификации микробных клеток, такие как генетическая инженерия, проектирование метаболических путей и последующий отбор наиболее эффективных штаммов не решают одну из самых главных физических ограничений биокатализа - медленную диффузию субстрата внутрь клетки к реакционным центрам, где, собственно, и происходит ферментативная реакция. Подход к контролируемому локальному повреждению мембран в настоящее время успешно используется учеными для внутриклеточной доставки лекарств, управления клеточным поведением и трансфекции. Для мембранопорации используется широкий спектр физических стимулов (электропорация, механопорация, термопорация) и химических агентов. Из существующих методов физических воздействий магнитное поле выгодно отличается от остальных безвредностью, неинвазивностью и отсутствием рассеивания энергии в биологических тканях. Создание “on-off” системы, состоящей из переменного магнитного поля, субмикронной анизотропной частицы и интересующей биосистемы позволит точно регулировать биокаталитическую и биосинтетическую активность посредством изменения параметров внешнего воздействия, используя понятный физический механизм мембранопорации. В качестве систем-аналогов в настоящее время используются девайсы, основанные на электро- и механопорации. Основными недостатками данных систем являются негативные эффекты действия электрических токов в биологических средах (например, Джоулев нагрев, резкие изменения pH, образование пузырьков), невозможность масштабирования и отсутствие тонкого механизма контроля режима пенетрации мембраны или её отсутствия. В связи с вышеперечисленным мы предлагаем новую систему для локального повреждения мембраны, которая обходит проблемы известных систем и в теории будет обуславливать необходимые биологические эффекты.

Основная часть. Мы разработали универсальный подход к контролю клеточного биокатализа посредством использования внешнего физического стимула (магнитное поле) и специально разработанных частиц, обеспечивающие локальное повышение проницаемости клеточных мембран для субстратов биохимических циклов, что способствует ускорению биокатализа в живых клетках. Созданные специальные магнитные ежеподобные частицы состоят из микронного ядра (4 мкм в диаметре) с небольшими наноструктурами (50 нм в диаметре) и высокой плотностью наноструктур (15 наноструктур на 1 мкм^2), что позволяет создать безопасные условия для контролируемой пенетрации мембраны и увеличения диффузии

субстрата в клетку. В ходе работы, мы наблюдали значительное изменение проницаемости мембраны дрожжевых клеток под магнитомеханическим действием магнитных частиц. Более того, мы не наблюдали значительного изменения жизнеспособности клеток после мечения клеток магнитными частицами во всем диапазоне концентраций. В контексте ускорения биокатализа, мы наблюдали значительное изменение скорости ферментации в присутствии вращающегося магнитного поля и частиц, похожих на ежей. Установлено, что количество этанола, полученного в результате ферментации, опосредованной магнитным полем, составляло до 50%.

Выводы. Результаты предполагают возможность увеличения биокаталитической активности модельных дрожжевых клеток из-за увеличения массопереноса субстрата через клеточную мембрану в присутствии вращающегося магнитного поля и наноструктурированных частиц. Возможность контролировать биокатализ клеток без снижения их жизнеспособности является многообещающим для промышленного биосинтеза полезных продуктов с помощью генно-инженерных клеток и улучшения таких биопроцессов.

Кладько Д.В. (автор)

Подпись

Виноградов В.В. (научный руководитель)

Подпись